

嗜水气单胞菌抗体酶联免疫分析（ELISA）

试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

药品名称：

通用名：嗜水气单胞菌抗体酶联免疫分析试剂盒

使用目的：

本试剂盒用于定性测定血清，血浆及相关液体样本中嗜水气单胞菌抗体。

实验原理

本试剂盒采用间接法测定标本中嗜水气单胞菌抗体。用纯化的嗜水气单胞菌抗原包被微孔板，制成固相抗原，与样品中嗜水气单胞菌抗体温育后，加入生物素标记的抗 IgG 抗体，再与链霉亲和素-HRP 结合，形成免疫复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），与 CUTOFF 值相比较，从而判定标本中嗜水气单胞菌抗体的存在与否。

试剂盒组成

1	20 倍浓缩洗涤液	50ml×1 瓶	8	样品稀释液	6ml×1 瓶
2	链霉亲和素-HRP	6ml×1 瓶	9	阴性对照	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条	10	阳性对照	0.5ml×1 瓶
4	生物素标记的抗-IgG 抗体	6ml×1 瓶	11	密封袋	1 个
5	显色剂 A 液	6ml×1 瓶	12	封板膜	3 张
6	显色剂 B 液	6ml×1/瓶	13	说明书	1 份
7	终止液	6ml×1 瓶			

标本要求

1. 不能检测含 NaN₃ 的样品，因 NaN₃ 抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。
2. 标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行，提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融

操作步骤

1. 编号：将样品对应微孔按序编号，每板应设阴性对照 2 孔、阳性对照 2 孔、空白对照（不加样品、生物素标记的抗-IgG 抗体、链霉亲和素-HRP）1 孔
2. 加样：分别在阴、阳性对照孔中加入阴性对照、阳性对照 50μl。然后在待测样品孔先加样品稀释液 40μl，然后再加待测样品 10μl。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀，37℃温育 45 分钟。
3. 配液：将 20 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 20 倍稀释后备用
4. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 4 次，拍干。
5. 加生物素标记的抗-IgG 抗体：每孔加入生物素标记的抗-IgG 抗体 50μl（空白孔除外）。37℃温育 30 分钟
6. 洗涤：操作同 4。

7. 加链霉亲和素-HRP: 每孔加入 50 μ l 的链霉亲和素-HRP (空白孔除外), 轻轻振荡混匀, 37 $^{\circ}$ C 温育 30 分钟。
8. 洗涤: 操作同 4。
9. 显色: 每孔先加入显色剂 A 50 μ l, 再加入显色剂 B 50 μ l, 轻轻震荡混匀, 37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 分钟。
10. 终止: 每孔加终止液 50 μ l, 终止反应 (此时蓝色立转黄色)。
11. 测定: 以空白空调零, 450nm 波长依序测量各孔的吸光度 (OD 值)。测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

结果判定:

试验有效性: 阳性对照孔平均值 ≥ 1.00 ; 阴性对照平均值 ≤ 0.10

临界值 (CUT OFF) 计算: 临界值=阴性对照孔平均值+0.15

阴性判定: 样品 OD 值< 临界值 (CUT OFF) 者为嗜水气单胞菌抗体阴性

阳性判定: 样品 OD 值 $\geq$ 临界值 (CUT OFF) 者为嗜水气单胞菌抗体阳性

注意事项

1. 操作严格按照说明书进行, 本试剂不同批号组分不得混用。
2. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用, 酶标包被板开封后如未用完, 板条应装入密封袋中保存。
3. 浓洗涤液可能会有结晶析出, 稀释时可在水浴中加温助溶, 洗涤时不影响结果。
4. 封板膜只限一次性使用, 以避免交叉污染。
5. 底物请避光保存。
6. 试验结果判定必须以酶标仪读数为准, 使用双波长检测时, 参考波长为 630nm
7. 所有样品, 洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。终止液为 2M 的硫酸, 使用时必须注意安全。

规格:

96 人份/盒

保存条件及有效期

1. 试剂盒保存: 2-8 $^{\circ}$ C。
2. 有效期: 6 个月